

Aktivitas Antioksidan Ekstrak, Fraksi dan Golongan Senyawa Kimia Daun *Premna oblongata* Miq.

Katrin¹, Atika Bendra¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, Depok 16424

Email : basahkatrin@yahoo.com

Abstrak

Indonesia memiliki beraneka ragam tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami. Pada penelitian ini, dilakukan uji aktivitas antioksidan dari fraksi ekstrak daun cincau perdu (*Premna oblongata* Miq.). Pengujian dilakukan dengan metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH). Daun *P. oblongata* diekstraksi berturut-turut dengan *n*-heksana, etil asetat, dan metanol. Ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi difraksinasi dengan kromatografi kolom dipercepat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak yang paling aktif adalah ekstrak metanol dengan nilai IC_{50} sebesar 20,01 $\mu\text{g/ml}$. Selanjutnya ekstrak teraktif difraksinasi dengan kromatografi kolom dipercepat, dan didapatkan 6 fraksi gabungan. Hasil penggabungan fraksi masing-masing diuji aktivitas antioksidannya dengan metode DPPH, dan diperoleh fraksi-5 sebagai fraksi teraktif dengan nilai IC_{50} sebesar 23,51 $\mu\text{g/ml}$. Golongan senyawa pada fraksi teraktif berturut-turut adalah flavonoid, glikosida, saponin, dan tanin.

Abstract

Indonesia has many kinds of plants which can be used as natural antioxidant sources. This study was focused on antioxidant activity of Cincau Perdu leaves extract (*Premna oblongata* Miq.) using 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *P. oblongata* leaves was extracted using *n*-hexane, ethylacetate and methanol. It was found that methanol extract has the highest activity with IC_{50} value 20.01 $\mu\text{g/mL}$. The extract with highest antioxidant activity were fractionated with accelerated column chromatography and were earned 6 combination fractions. The antioxidant activity of each combination fractions were tested by DPPH methods. Fraction-5 showed the highest activity as antioxidant with IC_{50} 23.51 $\mu\text{g/mL}$. The compounds of the active fractions were flavonoid, glikon, saponin and tannin.

Keywords: antioxidant, DPPH, *P. oblongata*.

PENDAHULUAN

Antioksidan adalah molekul yang mampu menghambat oksidasi molekul yang dapat menghasilkan radikal bebas (Rajnarayana *et al.*, 2011). Antioksidan telah secara luas digunakan untuk melindungi makanan dari degradasi oksidatif. Berdasarkan sumbernya antioksidan dapat berupa antioksidan alami dan antioksidan sintetik (buatan). Antioksidan sintetik yang paling sering digunakan adalah *Propil Galat* (PG), *Butylated Hydroxyanisole* (BHA), *Butylated Hydroxytoluene* (BHT) dan *Tertbutyl Hydroquinone* (TBHQ). Antioksidan sintetik ini dikhawatirkan dapat menimbulkan efek samping yang berbahaya bagi kesehatan manusia karena bersifat karsinogenik. Berbagai studi mengenai BHA dan BHT menunjukkan bahwa komponen ini dapat menimbulkan tumor pada hewan percobaan pada penggunaan dalam jangka panjang (Andarwulan, *et al.*, 1996).

Kekhawatiran akan adanya kemungkinan efek samping dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami menjadi alternatif yang perlu dikembangkan. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan senyawa oksigen reaktif, menghambat terjadinya penyakit, serta mampu menghambat peroksidasi lipid pada makanan (Sunarni, 2005).

Indonesia memiliki anekaragam tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan alami diantaranya terdapat empat

jenis tanaman cincau yang menarik perhatian, yaitu cincau hijau (*Cyclea barbata*), cincau perdu (*P. oblongata* Miq.), cincau minyak (*Stephania hermandifolia*), dan cincau hitam (*Mesona palustris*). Cincau yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat adalah cincau hijau, cincau perdu, dan cincau hitam (Pitojo dan Sumiati, 2005). Berdasarkan data yang telah ada, diketahui bahwa tanaman cincau hijau (*Cyclea barbata*) mengandung alkaloid 0,98% dan fenol total 2,21%. Alkaloid bisbenzilisokuinolin dari akar cincau hijau mempunyai aktivitas sitotoksik, sangat potensial sebagai kemoprotektif serta bersifat sebagai antioksidan (Zakaria, 1996). Penelitian lainnya menunjukkan bahwa daun cincau perdu (*P. oblongata*) memiliki kandungan klorofil tertinggi dibandingkan pegagan (*Centella asiatica*), daun katuk (*Sauropus androgynus* Merr), dan daun murbei (*Morus alba* L) (Nurdin *et al.*, 2009). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi daun *P. oblongata* serta identifikasi golongan senyawa kimia dari fraksi teraktif. Aktivitas antioksidan *P. oblongata* diuji dengan menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil).

METODE

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah blender, peralatan maserasi (IKA Labortechnik KS501D), penguap vakum putar (*Buchi*), kolom kromatografi vakum, pipet volume, pipet mikro (Eppendorf), pipet tetes (Pyrex), corong ACIS),

bejana kromatografi *Buchner* (Jangkar), spektrofotometer UV-VIS, kuvet, timbangan analitik peralatan kolom kromatografi vakum, *vortex-mixer* (VM-2000), 37°C (Memmert) dan lemari pendingin, labu Erlenmeyer, labu takar, gelas ukur, penampung berbagai ukuran dan alat gelas lainnya.

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun cincau perdu (*P. oblongata* Miq.) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik (BALITRO) dan telah dideterminasi di Herbarium Bogorinese (LIPI), Cibinong.

Bahan-bahan lain yang digunakan pada penelitian ini adalah *n*-heksana, etilasetat, dan metanol teknis yang telah didestilasi; metanol p.a; lempeng KLT; butanol; asam asetat; aqua; H₂SO₄ 10 % sebagai penampak noda pada KLT; silica gel (70-230 mesh, E. Merck 1.07734); asam klorida p.a (Merck); asam sulfat p.a (Merck); benzena p.a (Merck); asam asetat anhidrat; asam borat; asam oksalat; besi (III) klorida; etanol 96 %; natrium hidroksida; serbuk magnesium; serbuk seng; gelatin; natrium klorida; Mayer LP; Dragendorff LP; Bouchardat LP; Molisch LP; DPPH (Sigma-Aldrich). Pembanding Kuersetin (Sigma-Aldrich).

Penyiapan bahan

Daun *P. oblongata* yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Obat, dicuci dan disortasi, selanjutnya dirajang dan dikeringkan dengan sinar matahari tak langsung selama 5 hari, dilanjutkan dengan oven pada suhu

50°C. Daun yang sudah kering kemudian diserbukkan dengan mesin penggiling (blender), kemudian ditimbang.

Pembuatan ekstrak

Serbuk daun dimaserasi menggunakan pelarut dengan kepolaran yang meningkat berturut-turut menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan metanol. Maserasi dilakukan sampai terlihat hampir tidak berwarna (dilakukan pengulangan maserasi sampai lima kali). Masing-masing ekstrak yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* (pada suhu 50° C) sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksan, etil asetat dan metanol kental yang masih dapat dituang, lalu ekstrak dikeringkan pada suhu kamar. Ekstrak yang diperoleh kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap simplisia awal.

Uji pendahuluan aktivitas antioksidan ekstrak secara KLT

Sebelum dilakukan uji aktivitas dengan metode peredaman radikal DPPH secara kuantitatif, dilakukan uji pendahuluan aktivitas antioksidan secara kualitatif, baik untuk ekstrak maupun fraksi. Masing-masing 50 mg ekstrak dilarutkan dalam metanol 50 ml. Masing-masing ekstrak tersebut ditotolkan pada lempeng silica gel 60 F254 yang telah dielusi dengan fase gerak tertentu, sebanyak 5 µl pada titik awal penotolan. Penotolan dilakukan secara terpisah dengan jarak lebih kurang 1,5 cm antara zat yang diperiksa. Untuk menentukan bercak yang mempunyai aktivitas antioksidan digunakan

pereaksi semprot larutan DPPH dengan konsentrasi 100 µg/ml. Senyawa aktif penangkal radikal bebas akan menunjukkan bercak berwarna kuning pucat dengan latar belakang ungu (Isnindar *et al*).

Uji aktivitas antioksidan ekstrak dan fraksi

1. Pembuatan larutan DPPH yaitu 10 mg DPPH ditimbang dan dilarutkan dalam 100 ml metanol p.a. disimpan dalam botol gelap.
2. Pembuatan larutan uji masing-masing ekstrak dari daun *P.oblongata* (ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan metanol) dalam metanol p.a, sebagai pembanding digunakan kuersetin dengan berbagai konsentrasi 1; 2; 3; 4; 5; dan 6 µg/mL).

3. Pengukuran larutan uji dengan menambahkan 1 mL larutan uji berbagai konsentrasi yang telah dibuat, ditambahkan 1,0 mL larutan DPPH dalam 2,0 mL metanol p.a, dikocok hingga homogen selama 30 menit, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, selanjutnya serapan diukur pada panjang gelombang optimum (517 nm). Nilai IC₅₀ dihitung masing-masing dengan menggunakan rumus persamaan regresi (Blois, 1958).

Persentase Inhibisi (IC₅₀) terhadap radikal DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorban blangko} - \text{absorban sampel}}{\text{Absorban blangko}} \times 100\%$$

Setelah diperoleh persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi dilanjutkan dengan perhitungan secara regresi linier menggunakan persamaan $y = A + Bx$, dimana x adalah konsentrasi (µg/mL) dan y adalah presentase inhibisi (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibition concentration* 50 % atau IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebanyak 50 %. Nilai IC₅₀ didapatkan dari nilai x setelah mengganti y dengan 50

Penapisan fitokimia ekstrak dan fraksi

Ekstrak yang diperoleh dilakukan pemeriksaan kandungan kimia menggunakan beberapa pereaksi kimia antara lain untuk pereaksi alkaloid, flavonoid, terpenoid, tannin,

glikosida, saponin dan antrakinon. Pada fraksi yang diperoleh dilakukan pemeriksaan kandungan kimia secara KLT menggunakan berbagai macam eluen, kemudian disemprot dengan penampak noda yang sesuai dengan golongannya. Penapisan fitokimia untuk glikosida dilakukan menggunakan pereaksi kimia (Depkes RI, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan bahan

Hasil determinasi tanaman menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar yaitu *P. oblongata*. Hasil pengeringan 10 kg daun segar diperoleh simplisia daun kering daun kering 1 kg (10 %).

Ekstraksi

Serbuk kering daun *P. oblongata* diekstraksi dengan metode maserasi karena metode ini menggunakan peralatan sederhana sehingga sangat mudah dilakukan dan tidak merusak kandungan senyawa kimia tanaman yang tidak tahan panas. Serbuk kering daun *P. oblongata* dimaserasi dengan pelarut dengan kepolaran meningkat mulai dari *n*-heksana, etilasetat dan selanjutnya metanol, dimaksudkan untuk memisahkan senyawa metabolit sekunder berdasarkan kepolarannya, sehingga diharapkan memudahkan penapisan fitokimia. Masing-masing ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan penguap putar vakum pada suhu lebih kurang 50°C sehingga diperoleh ekstrak kental. Masing-masing ekstrak ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap berat simplisia awal. Rendemen yang diperoleh dari masing-masing ekstrak beturut-turut adalah ekstrak *n*-heksana 2,05%, ekstrak etil asetat 2,37% dan ekstrak metanol 14,04%.

Uji aktivitas antioksidan ekstrak

Pengujian aktivitas antioksidan ekstrak di dahului dengan uji kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis dan pereaksi semprot DPPH bertujuan untuk memperkirakan ekstrak mana yang memiliki aktivitas antioksidan. Larutan sampel dari tiap ekstrak dan larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 1000 µg/ml ditotolkan pada

lempeng KLT, kemudian disemprot dengan larutan DPPH dengan konsentrasi 100 µg/ml. Selanjutnya pada masing-masing ekstrak kental yang diperoleh, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometer *UV-VIS*. Metode DPPH memberikan informasi reaktivitas senyawa yang diuji dengan suatu radikal stabil. DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 517 nm dengan warna violet gelap (Molyneux, 2004). Apabila DPPH direaksikan dengan senyawa peredam radikal bebas misalnya flavonoid, intensitas warna ungu akan berkurang dan bila senyawa peredam radikal bebas yang bereaksi jumlahnya besar, maka DPPH dapat berubah warna menjadi kuning. Penangkap radikal bebas menyebabkan menjadi berpasangan yang kemudian menyebabkan penghilangan warna yang sebanding dengan jumlah yang diambil (Yu, 2008). Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun *P. oblongata* memiliki aktivitas antioksidan paling kuat. Hal ini ditunjukkan dengan nilai IC_{50} ekstrak metanol yakni 20,01 µg/mL, diikuti dengan ekstrak etilasetat 63.17 µg/mL, dan ekstrak heksana 68.93 µg/mL. Oleh sebab itu, ekstrak metanol dipilih untuk dilakukan pemisahan lebih lanjut. Sebagai pembanding digunakan kuersetin yang memiliki IC_{50} 1,565 µg/mL. Data dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak daun *Premna oblongata*

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi		% Inhibisi	Persamaan linier	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
		Blanko	Sampel uji			
Kuersetin	1	0,675	0,647	3,86	$y = 38,54x - 10,35$ $R^2 = 0,920$	1,565
	2		0,626	6,98		
	3		0,541	19,61		
	4		0,535	20,51		
	5		0,432	34,91		
	6		0,307	54,38		
Ekstrak Heksan	1	0,675	14,56	14,56	$y = 0,4911x + 16,147$ $R^2 = 0,9134$	68,93
	5		16,03	16,03		
	10		18,12	18,12		
	25		20,22	20,22		
	50		24,21	24,21		
	100		27,19	27,19		
Ekstrak Etil Asetat	5	0,673	0,629	6,5	$y = 0,679x + 7,053$ $R^2 = 0,978$	63,17
	10		0,612	9,06		
	25		0,589	12,48		
	50		0,578	15,9		
	100		0,514	23,62		
Ekstrak Metanol	1	0,673	0,595	11,58	$y = 1,963x + 10,71$ $R^2 = 0,9992$	20,01
	5		0,584	13,22		
	10		0,574	14,71		
	25		0,517	23,17		
			0,272	59,58		

Pemisahan ekstrak

Pemisahan ekstrak dilakukan pada ekstrak yang memiliki aktivitas antioksidan terkuat yakni metanol dengan IC₅₀ 20,01 $\mu\text{g/mL}$. Pemisahan dilakukan terhadap 25 g ekstrak metanol secara kromatografi kolom dipercepat yang menggunakan bantuan vakum untuk menggerakkan eluen. Metode kromatografi kolom dipercepat digunakan karena lebih efisien dalam pemisahan dibandingkan kromatografi kolom gravitasi. Kromatografi kolom dipercepat digunakan untuk mengatasi lamanya waktu yang dibutuhkan untuk pemisahan menggunakan

kolom kromatografi klasik. Pada dasarnya metode preparatif yang berbentuk kolom. Aliran fase gerak dalam metode ini diaktifkan dengan bantuan kondisi vakum.

Pada pemisahan ekstrak ini digunakan campuran pelarut dengan kepolaran meningkat berturut-turut mulai dengan campuran pelarut *n*-heksan-etil asetat (200:0, 180:20, 160:40, 140:60, 120:80, 100:100, 80:120, 60:140, 40:160, 20:180, 0:200), dilanjutkan dengan campuran etil asetat-metanol (200:0, 180:20, 170:30, 160:40, 150:50, 140:60, 120:80, 100:100, 80:120, 60:140, 40:160, 20:180, 0:20). Setiap 200

mL eluat ditampung sehingga diperoleh 21 fraksi, lalu fraksi-fraksi tersebut dilihat pola kromatogramnya dengan KLT. Fraksi yang memiliki profil KLT yang sama digabung sehingga diperoleh 6 fraksi gabungan sebagai berikut: fraksi 4 menjadi fraksi 1, fraksi 5 menjadi fraksi 2, fraksi 6-7 digabung menjadi fraksi 3, fraksi 8-13 digabung menjadi fraksi 4, fraksi 14-18 digabung menjadi fraksi 5, fraksi 19-21 digabung menjadi fraksi 6.

Uji aktivitas antioksidan fraksi

Sama halnya dengan pengujian aktivitas antioksidan pada ekstrak, pengujian aktivitas antioksidan pada fraksi juga didahului dengan uji kualitatif menggunakan kromatografi lapis tipis dan pereaksi semprot DPPH. Masing-masing hasil penggabungan fraksi dan larutan standar kuersetin dengan konsentrasi 1000 µg/ml ditotolkan pada lempeng KLT, selanjutnya disemprot dengan larutan DPPH konsentrasi 100 µg/ml. Hasil uji kualitatif ini menunjukkan keenam fraksi menimbulkan bercak berwarna kuning dengan latar belakang ungu dengan intensitas yang berbeda. Fraksi-5 menunjukkan intensitas perubahan warna dari ungu menjadi kuning paling mirip dengan blanko kuersetin. Uji aktivitas antioksidan pada masing-masing fraksi tersebut secara kuantitatif dengan metode yang sama dengan pengujian ekstrak yakni metode DPPH menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 517 nm. Hasil uji menunjukkan fraksi-5 yang memiliki aktivitas antioksidan paling aktif dengan nilai IC_{50} sebesar 23.51 µg/mL. Data dapat dilihat pada Tabel 2.

Penapisan fitokimia fraksi teraktif

Pada fraksi teraktif yaitu fraksi-5 dilakukan identifikasi golongan senyawa kimia dengan pereaksi kimia dan kromatografi lapis tipis (KLT). Prosedur identifikasi golongan senyawa kimia dengan pereaksi kimia pada fraksi teraktif sama dengan identifikasi golongan senyawa kimia dengan pereaksi kimia pada ekstrak.

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan beberapa uji yaitu menggunakan pereaksi Mayer LP, Bouchardat LP dan Dragendorff LP tidak memberikan hasil positif. Identifikasi menggunakan KLT dengan penampak noda Dragendorf LP juga tidak memberikan hasil positif karena tidak terbentuknya bercak jingga-coklat. Sebagai pembanding standar piperin.

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan beberapa uji yaitu dengan menggunakan:

1. serbuk seng dan asam klorida encer, memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna merah intensif;
 2. serbuk magnesium dan asam klorida pekat, memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna kuning;
 3. asam borat dan asam oksalat, memberikan hasil positif dengan adanya fluoresensi kuning intensif.
- Penapisan menggunakan KLT dengan penampak noda $AlCl_3$ memberikan hasil positif karena terbentuknya bercak berfluoresensi kuning yang dibandingkan dengan standar kuersetin.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi		% Inhibisi	Persamaan linier	IC50 ($\mu\text{g/ml}$)
		Blanko	Sampel uji			
Fraksi 1	100	0.6237	0.5168	17.13	$y = 0.0925x + 14.865$ $R^2 = 0.9572$	379.83
	150		0.5113	18.01		
	200		0.4974	20.25		
	250		0.4956	20.53		
	300		0.4910	21.27		
	350		0.4789	23.21		
Fraksi 2	100	0.6237	0.5447	12.66	$y = 0.1864x + 7.483$ $R^2 = 0.9305$	228.09
	150		0.5312	14.82		
	200		0.5193	16.73		
	250		0.5116	17.97		
	300		0.4988	20.02		
	350		0.4640	25.60		
Fraksi 3	100	0.6237	0.5364	13.99	$y = 0.0915x + 11.148$ $R^2 = 0.9047$	424.61
	150		0.5341	14.36		
	200		0.5255	15.74		
	250		0.5221	16.28		
	300		0.5164	17.20		
	350		0.4978	20.18		
Fraksi 4	10	0.6237	0.5785	7.24	$y = 1.2663x + 2.7891$ $R^2 = 0.9916$	37.28
	25		0.5669	9.10		
	50		0.5062	18.83		
	75		0.4620	25.92		
	90		0.4227	32.22		
	100		0.4102	34.23		
Fraksi 5	10	0.6237	0.5647	9.45	$y = 2.066x + 1.4145$ $R^2 = 0.9811$	23.51
	25		0.5546	11.07		
	50		0.4570	26.72		
	75		0.3789	39.29		
	90		0.3041	51.24		
	100		0.3025	51.49		
Fraksi 6	10	0.6237	0.5929	4.93	$y = 1.2271x + 2.026$ $R^2 = 0.996$	39.09
	25		0.5577	10.58		
	50		0.4719	16.13		
	75		0.4651	25.42		
	90		0.4385	29.69		
	100		0.4192	32.78		

Identifikasi glikosida dengan cara hidrolisa sampel dengan asam klorida, disari dengan eter, ditambahkan natrium sulfat anhidrat P, diuapkan, ditambahkan metanol, diuapkan kembali. Hasil hidrolisa yaitu glikonnya dilarutkan dengan aquades, kemudian ditambahkan pereaksi Mollisch LP, dan ditambahkan asam sulfat memberikan hasil positif. Identifikasi saponin dilakukan dengan cara sebagai berikut : ekstrak yang ditambahkan aquadest panas, didinginkan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik memberikan hasil positif dengan terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm dan pada penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang menunjukkan hasil positif. Identifikasi tanin dilakukan dengan beberapa uji yaitu :

1. Larutan uji yang ditambahkan larutan besi (III) klorida, memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna hijau.
2. Filtrat ditambahkan larutan gelatin 10%, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih.
3. Penapisan menggunakan KLT dengan penampak noda FeCl_3 memberikan hasil positif dengan terbentuknya bercak warna hijau-kehitaman yang dibandingkan dengan standar Psidii Folium (DepKes. RI., 1977)

Identifikasi antrakinon dilakukan dengan beberapa uji yaitu: a) Ekstrak yang ditambahkan asam sulfat, ditambahkan benzena, lapisan benzena dikocok dengan natrium hidroksida tidak memberikan hasil

positif dengan tidak terbentuknya lapisan air berwarna merah intensif dan lapisan benzena yang tidak berwarna. b) Penapisan menggunakan KLT dengan penampak noda KOH memberikan hasil negatif karena tidak terbentuknya bercak merah yang dibandingkan dengan standar Rhei Radix (Wagner, H. and Bladt, S., 1996).

Identifikasi terpen dilakukan dengan beberapa uji yaitu :

1. Larutan uji yang ditambahkan asam asetat anhidrat, dan asam sulfat pekat tidak memberikan hasil positif dengan tidak terbentuknya warna merah-hijau atau violet-biru.
2. Penapisan menggunakan KLT dengan penampak noda anisaldehyd-asam sulfat tidak memberikan hasil positif dengan tidak terbentuknya bercak warna biru yang dibandingkan dengan standar Caryophylli Flos (Wagner, H. & Bladt, S., 1996).

Dari hasil identifikasi golongan senyawa kimia dengan pereaksi kimia pada fraksi-5 didapatkan hasil positif pada senyawa flavonoid, glikosida, tanin. Hasil penapisan selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 3. Identifikasi secara kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan eluen BAW (*Buthanol, Acetic acid, Water*), karena setelah dicoba berbagai macam kombinasi eluen, eluen ini yang memberikan pemisahan paling baik pada fraksi-5. Sebagai pembanding digunakan tanaman yang sudah terbukti memiliki kandungan senyawa kimia yang

Tabel 3. Penapisan fitokimia fraksi-5.

Golongan Senyawa	Cara uji /Pereaksi	Hasil
Alkaloid	1. Mayer LP	(-)
	2. Bouchardat LP	(-)
	3. Dragendorf LP	(-)
	4. KLT, pendeteksi Dragendorf	(-)
Flavonoid	1. Serbuk Zn dan HCl encer	(+)
	2. Serbuk Mg dan HCl encer	(+)
	3. Asam borat dan asam oksalat	(+)
	4. KLT, pendeteksi $AlCl_3$	(+)
Glikon dari glikosida	Mollisch LP	(+)
Antrakinson	NaOH	(-)
Saponin	Reaksi Busa : Kocok dengan H_2O diamkan + HCl	(+)
Tanin	1. $FeCl_3$	(+)
	2. Gelatin	(+)
	3. KLT, pendeteksi $FeCl_3$	(+)
Terpen	asam asetat anhidrat + $HSO_4 P$	(-)

Keterangan : (+) terdeteksi ; (-) tidak terdeteksi

sesuai dengan golongan senyawa yang diuji yaitu alkaloid, terpenoid, flavonoid, tanin, saponin dan antrakuinon. Hasil uji secara KLT pada fraksi-5 menunjukkan hasil positif golongan flavonoid, glikosida, tanin, dan saponin, namun tidak memberikan reaksi positif terhadap golongan alkaloid, dan antrakuinon.

KESIMPULAN

Ekstrak daun *P. Oblongata* yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat adalah ekstrak metanol dengan IC_{50} 20,01 $\mu g/$

mL. Fraksi ekstrak metanol yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat adalah fraksi-5 dengan nilai IC_{50} sebesar 23,51 $\mu g/$ mL, yang mengandung senyawa golongan flavonoid, glikosida, tanin, dan saponin.

DAFTAR ACUAN

- Andarwulan, N., Wijaya, H., dan Cahyono, D.T. (1996). Aktivitas antioksidan dari daun sirih (*Piper betle* L). *Teknologi dan Industri Pangan*, 7, 29-30
- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable

- Free Radical. *Nature*, 181, 1199- 1200
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (1995). *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Direktorat Pengawasan Obat Tradisional (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat Cetakan Pertama*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Isnindar., Setyowat, E.P., dan Wahyuono, S. (2011). Aktivitas antioksidan daun kesemek (*Diospyros kaki* L.F) dengan metode DPPH (2,2-Difenil-Pikrilhidrazin). *Majalah Obat Tradisional*
- Molineux, P. (2004). The use of the stable free radical Diphenyl Picrylhydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklankarin Journal Sciences Technology*, 26 (2), 211-219
- Nurdin., Kusharto, C.M., Tanziha, I., dan Januwati, M. (2009). Kandungan klorofil berbagai jenis daun tanaman dan Cu-turunan klorofil serta karakteristik fisiko-kimianya. *Jurnal Gizi dan Pangan*.
- Pitojo, S., dan Sumiati. (2005). *Cincau: Cara pembuatan dan variasi olahan*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Wagner, H., and Bladt, S. (1996). *Plant drug analysis* (2nd ed.). Munich: Springer
- Rajnarayana, K., Ajitha M., Gopireddy G., dan Giriprasad, V. (2011). Comperative antioxidant potential of some fruit and vegetables using DPPH method. *International Journal of Pharmacy & Technology*, 3(1), 1952-1957
- Yu, L. (2008). *Wheat Antioxidants*. United States of America: Wiley
- Zakaria, F.R. (1996). Sintesis senyawa radikal dan elektrofil dalam oleh komponen pangan reaksi biomolekuler, dampak terhadap kesehatan dan penangkalan. *Prosiding Seminar*. Bogor: Pusat Studi Pangan dan Gizi IPB.